

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) terhadap *Candida albicans* secara *In Vitro*

Ardelia Dewanti¹⁾ Agung Suprihadi¹⁾ Sri Pujiyanto^{1)*}

¹⁾Laboratorium Bioteknologi, Departemen Biologi, Fakultas Sains dan Matematika Universitas Diponegoro
Jl. Prof. H. Soedarto, SH Tembalang, Semarang,
Indonesia

Email: dewantiardelia@gmail.com

^{*)}Corresponding author Email: spujiyanto@undip.ac.id

ABSTRAK

Kandidiasis merupakan penyakit infeksi yang disebabkan oleh *Candida albicans*. Pengobatan menggunakan kelompok obat antifungi komersial dapat menimbulkan efek samping. Salah satu upaya yang dapat dilakukan yaitu melakukan pencarian senyawa antifungi, seperti flavonoid dan fenol yang banyak terkandung pada tanaman *Tinospora crispa*. Penelitian ini dilakukan untuk mengetahui efek pemberian ekstrak batang brotowali terhadap *Candida albicans*. Ekstrak diperoleh melalui proses maserasi menggunakan pelarut etanol dan etil asetat. Ekstrak dilarutkan dengan DMSO, dan dibuat larutan induk untuk memperoleh konsentrasi yang dibutuhkan. Aktivitas antifungi dilakukan dengan metode difusi cakram. Kontrol positif digunakan ketokonazol 50.000 ppm, sedangkan kontrol negatif digunakan DMSO. Hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat batang brotowali mampu menghambat pertumbuhan *Candida albicans* pada konsentrasi 40, 60, 80, dan 100%. Konsentrasi 20% dari ekstrak etil asetat batang brotowali tidak mampu menghambat *Candida albicans*. Ekstrak etanol batang brotowali pada konsentrasi 20, 30, 40 dan 50% tidak mampu menghambat *Candida albicans*. Hasil uji statistik menunjukkan terdapat perbedaan nyata antara tiap perlakuan konsentrasi ekstrak etil asetat batang brotowali terhadap zona bening yang terbentuk ($p < 0,05$). Kesimpulan penelitian ini diketahui bahwa ekstrak etil asetat batang brotowali memiliki efek antifungi terhadap pertumbuhan *Candida albicans* dengan konsentrasi minimal 40%.

Kata kunci: *Candida albicans*, ekstrak *Tinospora crispa*, antifungi

ABSTRACT

Candidiasis is an infection disease caused by *Candida albicans*. Treatment using commercial antifungal drugs has inconvenient side effects. An effective treatment searched for antifungal compound, such as flavonoid and phenol which are contained in *Tinospora crispa* (brotowali). This research study was conducted to determine the effect of brotowali stem extract on the growth of *Candida albicans*. The extract was obtained by maceration process using ethanol and ethyl acetate solvent. The extract was dissolved with DMSO, and a stock liquor extract was prepared to obtain the required concentration. The antifungal activity test was performed by using the disc diffusion method. As positive control used ketoconazole 50.000 ppm, while negative control was used DMSO. The result showed that ethyl acetate extract of brotowali stem was able to inhibit the growth of *Candida albicans* at concentrations of 40, 60, 80, and 100%. Ethyl acetate extract of brotowali stem at 20% concentration was not able to inhibit the growth of *Candida albicans*. The ethanol extract of brotowali stem at concentrations of 20, 30, 40, and 50% was not able to inhibit *Candida albicans*. The result of statistical test shows that there is a real difference between the treatment of concentration ethyl acetate extract of brotowali stem to inhibit zone ($p < 0,05$). The conclusion of this study is that ethyl acetate extract of brotowali stem was capable for antifungal effects on *Candida albicans* with a concentration at least 40%.

Keywords: *Candida albicans*, *Tinospora crispa* extract, antifungal

PENDAHULUAN

Beberapa jenis fungi dapat menjadi penyebab terjadinya penyakit infeksi, terutama di negara-negara beriklim tropis seperti Indonesia yang memiliki tingkat kelembaban udara yang tinggi, sehingga memudahkan terjadinya infeksi fungi. Infeksi yang disebabkan oleh fungi dikenal dengan istilah mikosis. Menurut Nasronudin (2006),

salah satu contoh infeksi yang disebabkan oleh fungi *Candida*, yaitu kandidiasis yang merupakan mikosis dengan insidensi tertinggi pada infeksi oportunistik.

Kandidiasis adalah infeksi primer atau sekunder genus *Candida*. Terdapat 200 spesies berbeda dari *Candida*, beberapa di antaranya yaitu *Candida glabrata*, *Candida crusei*, *Candida albicans*, *Candida tropicalis*.

Candida albicans merupakan salah satu jenis flora normal di dalam tubuh manusia yang dapat bersifat dominan dan menginfeksi jika keseimbangan flora dan kebersihan organ terganggu atau daya tahan tubuh yang melemah. Menurut Edward (1990), bahwa dari 344.610 kasus infeksi nosokomial yang ditemukan, 27.200 kasus (7,9%) disebabkan oleh jamur dan 21.488 kasus (79%) disebabkan oleh spesies *Candida*.

Saat ini, cara untuk mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans* dapat dilakukan dengan mengkonsumsi obat sintetik antifungi yang telah dikembangkan secara luas seiring dengan meningkatnya kasus kandidiasis. Namun, penggunaan obat antifungi yang terbuat dari bahan kimia, diperlukan pengawasan dari dokter dan harga obat tersebut relatif mahal. Penggunaan obat sintetik antifungi dapat menimbulkan permasalahan seperti adanya efek samping yang serius, dan menyebabkan resistensi. Menurut Brooks *et, al.* (2008), cara mengatasi infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans* dapat menggunakan ketokenazol, namun penggunaannya memiliki efek samping seperti demam, muntah, kejang otot dan hipertensi.

Mengetahui efek samping yang dapat ditimbulkan akibat penggunaan obat sintetik, maka dibutuhkan alternatif untuk menemukan agen antifungi yang

lebih aman dan meminimalisir efek samping yaitu dengan mengeksplor obat-obatan herbal dan memanfaatkan senyawa metabolit sekunder tanaman. Salah satu tanaman yang telah dikenal khasiatnya oleh masyarakat adalah brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers).

Menurut Shahriar *et, al.* (2011), ekstrak dari batang, daun dan akar brotowali memiliki potensi untuk dijadikan sebagai antimikroba (gram positif dan gram negatif) dan antifungi (*C. albicans*). Mengetahui manfaat tanaman brotowali sebagai antibakteri dan antifungi, maka dari itu penelitian ini dilakukan guna memperoleh alternatif untuk mengatasi kasus kandidiasis dengan memanfaatkan senyawa metabolit tanaman brotowali.

METODE

Pembuatan Ekstrak Etanol dan Etil Asetat Brotowali

Ekstrak batang brotowali dibuat dengan metode maserasi. Brotowali yang diperoleh dari sekitar daerah Semarang dikeringkan menggunakan oven dengan suhu $\pm 60^{\circ}\text{C}$ dan dihaluskan hingga menjadi serbuk simplisia. Simplisia brotowali yang diperoleh ditimbang seberat 400 g dan direndam dengan 1800 mL etanol selama 72 jam. Rendaman kemudian

disaring, residu penyaringan direndam kembali hingga 3 kali perendaman. Hasil penyaringan 1-3 dicampurkan dan diuapkan dengan *rotary evaporator* (Scilogex RE100-Pro) pada suhu 50°C hingga diperoleh ekstrak pekat.

Pembuatan Media Tumbuh Fungi

Media yang digunakan yaitu media SDA (*Sabouraud Dextrose Agar*) dan PDB (*Potato Dextrose Broth*). Media SDA dibuat dengan menggunakan SDA sebanyak 13 g yang dilarutkan dengan aquades 200 mL dan ditempatkan dalam erlenmeyer. Kedua bahan dilarutkan dengan pemanasan dan ditutup dengan kapas, kemudian disterilisasi dengan menggunakan autoklaf selama 15 menit dengan suhu 121°C tekanan 1 atm.

Media PDB dibuat dengan menggunakan ekstrak kentang, *dextrose*, dan aquades. Sebanyak 200 g kentang yang sudah dipotong berbentuk dadu direbus dalam 1000 mL aquades menggunakan *hot plate* selama 1 jam. Hasil rebusan disaring untuk memperoleh ekstrak kentang, dan ditambahkan aquades hingga mencapai volume 1000 mL. Ekstrak kentang ditambahkan dengan 10 g *dextrose*, selanjutnya diaduk dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm.

Peremajaan *Candida albicans*

Media agar miring SDA digoreskan satu ose isolat *C. albicans*, dan diinkubasi selama 3 hari pada suhu ruang.

Pembuatan Suspensi *Candida albicans*

Media PDB yang belum steril sebanyak 10 ml dimasukkan ke dalam tabung reaksi dengan menggunakan mikropipet dan disterilisasi menggunakan autoklaf dengan suhu 121°C selama 15 menit tekanan 1 atm. Setelah disterilisasi, ditambah 1 ose biakan *C. albicans* hasil peremajaan. Biakan ditutup dengan menggunakan kasa dan plastik wrap dan diinkubasi dengan menggunakan *shaker* sampai waktu 16 jam.

Pewarnaan *Candida albicans*

Kaca benda dibersihkan menggunakan alkohol, kemudian ditetesi *methylene blue* sebanyak satu tetes di bagian tengah kaca benda. Secara aseptik diambil satu ose suspensi biakan *C. albicans*, diletakkan di atas kaca benda yang telah diberi *methylen blue* dan diratakan. Tutup kaca benda dengan kaca penutup secara perlahan untuk meminimalisir gelembung udara di dalam preparat. Minyak imersi selanjutnya ditetaskan di atas kaca penutup dan diamati dengan perbesaran 1000 kali.

Pengujian Aktivitas Antifungi

Suspensi *C. albicans* yang telah beurmur 16 jam diambil sebanyak 1 mL dan dimasukkan ke dalam cawan steril, kemudian media agar *Sabouraud Dextrose* dituangkan dan diratakan (*pour plate*). Uji aktivitas ekstrak dilakukan menggunakan metode difusi. Kertas cakram merk Whatman dengan diameter 6 mm ditetesi ekstrak brotowali sebanyak 20 µL. Konsentrasi yang digunakan yaitu 10, 20, 30, 40, dan 50% untuk ekstrak etanol, 20, 40, 60, 80, dan 100% untuk ekstrak etil asetat.

Kertas cakram lainnya ditetesi ketokonazol sebagai kontrol positif dan DMSO sebagai kontrol negatif sebanyak 20 µL. Kertas cakram yang telah diberi ekstrak dan kontrol kemudian diletakkan di atas media agar *Sabouraud Dextrose* dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Zona bening yang terbentuk di sekitar kertas cakram, diameter zona bening diukur dengan menggunakan jangka sorong.

Hasil diameter zona bening dikategorikan kekuatan daya antifungi berdasarkan klasifikasi respon hambatan sebagai berikut:

Tabel 1. Klasifikasi aktivitas antimikroba ekstrak tanaman obat (Arora dan Bhardwaj, 1997)

No	Diameter Zona Bening (mm)	Keterangan
1	>20	Kuat
2	16 – 20	Sedang
3	10 – 15	Cukup
4	6 – 9	Lemah
5	<6	Tidak Aktif

Analisis Data

Pengolahan data hasil penelitian dianalisis dengan menggunakan software *Statistical Product and Service Solution* (SPSS) dengan tingkat signifikansi atau nilai probabilitas 0,05 dan taraf kepercayaan 95% ($\alpha = 0,05$). Variabel yang dianalisis yaitu besar diameter zona bening yang terbentuk berdasarkan tingkat konsentrasi ekstrak batang brotowali (*T.crispa*). Metode yang dapat digunakan yaitu uji parametrik *One-way ANOVA* (*Analysis of Variance*).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Ekstraksi Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers)

Melalui proses evaporasi diperoleh ekstrak seberat 9,8 g dengan pelarut etanol dan 2 g dengan pelarut etil asetat. Ekstrak etanol yang dihasilkan memiliki karakteristik berwarna hijau kehitaman berbentuk kental, sedangkan ekstrak etil asetat memiliki karakteristik

bewarna hijau kehitaman namun tidak sepekat ekstrak etanol dan berbentuk cair (Tabel 2).

Rendaman yang dihasilkan dari kedua pelarut yaitu 2,45% untuk pelarut etanol dan 2% untuk pelarut etil asetat (Tabel 3). Rendemen merupakan perbandingan bobot ekstrak yang diperoleh setelah proses pemekatan dengan berat awal simplisia yang digunakan, dalam hal ini rendemen adalah kadar komponen senyawa yang terekstraksi sesuai dengan tingkat kepolaran dalam simplisia brotowali yang dinyatakan dalam bentuk persen.

Dari hasil perhitungan tersebut diketahui bahwa ekstrak etanol memiliki rendemen total lebih besar dari ekstrak etil asetat, sehingga kemungkinan senyawa yang terdapat dalam batang brotowali lebih larut dalam pelarut etanol yang merupakan pelarut polar, tetapi aktivitasnya lebih rendah dibandingkan dengan ekstrak etil asetat.

Tabel 2. Uji Organoleptik Ekstrak

Parameter	Ekstrak Etanol	Ekstak Etil Asetat
Bentuk ekstrak	Kental	Cair
Warna	Hijau kehitaman	Hijau kehitaman
Bau	Khas (aromati)	Khas (aromatis)

Tabel 3. Hasil ekstraksi batang brotowali (*Tinospora crispa*)

Jenis pelarut	Simplisia (g)	Berat Rendemen Ekstrak	
		(g)	(%)
Etanol 96%	400	9,8	2,45
Etil Asetat	100	2	2

Peremajaan *Candida albicans*

Isolat *C. albicans* yang diperoleh dari Rumah Sakit Kariyadi, Semarang diremajakan dalam media *Sabaroud Dextrose Agar* (SDA). SDA dianggap sebagai media standar untuk pembiakan *C. albicans* karena mengandung dekstrosa dan pepton untuk mendukung pertumbuhan *C. albicans*. Namun beberapa fungi juga dapat tumbuh di

media ini karena SDA bukan media selektif untuk *C. albicans* (Bhavan et al., 2010).

Peremajaan dilakukan pada agar miring dalam tabung reaksi dengan cara penggosokan menyilang. Media miring tersebut kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Peremajaan dilakukan dengan tujuan menyelamatkan isolat mikroba dari kontaminasi oleh mikroba lain dan memberikan penyegaran nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba hingga mikroba tetap berada pada fase eksponensial (Pratiwi, 2008). Sebelum digunakan untuk uji aktivitas antifungi, hasil peremajaan terlebih dahulu diuji dengan metode pewarnaan untuk memastikan bahwa isolat merupakan isolat *C. albicans* dan fungi yang telah diremajakan tidak terkontaminasi oleh mikroba lainnya.

Pewarnaan *Candida albicans*

Identifikasi *C. albicans* dilakukan dengan meratakan 1 ose isolat *C. albicans* ke gelas benda yang sebelumnya telah ditetesi dengan *methylene blue*. Gelas benda kemudian ditutup dengan kaca penutup secara perlahan untuk meminimalisir adanya gelembung udara. Pengamatan isolat dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali yang sebelumnya

sudah ditetesi minyak imersi. Pewarna *methylene blue* digunakan untuk mengamati bentuk sel, dan membedakan sel hidup dan sel mati. *Methylene blue* merupakan indikator berbentuk kristal yang bila larut dalam air akan membentuk cairan berwarna biru.

Peremajaan *Candida albicans*

Isolat *C. albicans* yang diperoleh dari Rumah Sakit Kariyadi, Semarang diremajakan dalam media *Sabaroud Dextrose Agar* (SDA). SDA dianggap sebagai media standar untuk pembiakan *C. albicans* karena mengandung dekstrosa dan pepton untuk mendukung pertumbuhan *C. albicans*. Namun beberapa fungi juga dapat tumbuh di media ini karena SDA bukan media selektif untuk *C. albicans* (Bhavan et al., 2010).

Peremajaan dilakukan pada agar miring dalam tabung reaksi dengan cara penggosokan menyilang. Media miring tersebut kemudian disimpan dalam inkubator dengan suhu 37°C. Peremajaan dilakukan dengan tujuan menyelamatkan isolat mikroba dari kontaminasi oleh mikroba lain dan memberikan penyegaran nutrisi yang dibutuhkan untuk pertumbuhan mikroba hingga mikroba tetap berada pada fase eksponensial (Pratiwi, 2008). Sebelum digunakan untuk uji aktivitas antifungi, hasil peremajaan

terlebih dahulu diuji dengan metode pewarnaan untuk memastikan bahwa isolat merupakan isolat *C. albicans* dan fungi yang telah diremajakan tidak terkontaminasi oleh mikroba lainnya.

Pewarnaan *Candida albicans*

Identifikasi *C. albicans* dilakukan dengan meratakan 1 ose isolat *C. albicans* ke gelas benda yang sebelumnya telah ditetesi dengan *methylene blue*. Gelas benda kemudian ditutup dengan kaca penutup secara perlahan untuk meminimalisir adanya gelembung udara. Pengamatan isolat dilakukan di bawah mikroskop dengan perbesaran 1000 kali yang sebelumnya sudah ditetesi minyak imersi. Pewarna *methylene blue* digunakan untuk mengamati bentuk sel, dan membedakan sel hidup dan sel mati. *Methylene blue* merupakan indikator berbentuk kristal yang bila larut dalam air akan membentuk cairan berwarna biru.

masih memiliki sifat selektif permeabel sehingga *methylene blue* tidak dapat masuk, sedangkan sel mati berwarna biru karena membran selnya tidak memiliki sifat selektif permeabel sehingga cat dapat masuk yang menyebabkan sel berwarna biru (Kwolek dan Zadrag, 2014)

Gambar 1. Pengamatan *Candida albicans* di bawah mikroskop (1000x). Sel *Candida albicans* yang hidup tampak transparan, sedangkan sel yang mati tampak berwarna biru.

Hasil pengamatan diperoleh kumpulan sel *C. albicans* yang berbentuk oval dengan warna biru yang muncul akibat struktur dinding sel menunjukkan sel mati, sedangkan berwarna transparan menunjukkan sel hidup (Gambar 1). *Methylene blue* menjadi tidak berwarna dengan kehadiran enzim aktif, sehingga sel khamir yang hidup akan tampak transparan, sebaliknya dengan ketiadaan enzim aktif *methylene blue* akan tetap berwarna biru dan sel yang mati akan tampak berwarna biru.

Warna sel khamir hidup berwarna transparan disebabkan karena sel membrannya

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etanol Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers)

Pengujian aktivitas antifungi ekstrak etanol batang brotowali dilakukan dengan menggunakan metode difusi *Kirby and bauer*. Prinsip dari metode ini yaitu mikroba uji diinokulasikan pada medium

agar dalam cawan petri, kemudian kertas cakram yang mengandung zat antimikroba ditempatkan pada medium agar (Harley & Prescott, 2002). Media yang telah diinkubasi, diamati zona bening yang terbentuk dan diukur menggunakan jangka sorong. Ekstrak yang diperoleh melalui proses maserasi dilarutkan dan diencerkan terlebih dahulu dengan DMSO untuk memperoleh konsentrasi yang dibutuhkan. Suspensi *C. albicans* yang digunakan telah berumur 16 jam, dengan kepadatan $1,2 \times 10^3$.

Berdasarkan hasil penelitian, ekstrak etanol batang brotowali konsentrasi 10, 20, 30, 40, dan 50% tidak menunjukkan adanya aktivitas antifungi, hal ini ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening yang berarti ekstrak etanol dengan konsentrasi tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini disebabkan karena kandungan senyawa pada konsentrasi tersebut terlalu sedikit sehingga belum mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Konsentrasi ekstrak tidak memungkinkan untuk ditingkatkan, hal ini dikarenakan sifat ekstrak etanol yang jenuh sehingga semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka ekstrak akan semakin sulit larut dalam DMSO. Hingga saat ini belum ada standarisasi dalam pembuatan ekstrak, sehingga hasil yang berbeda dari

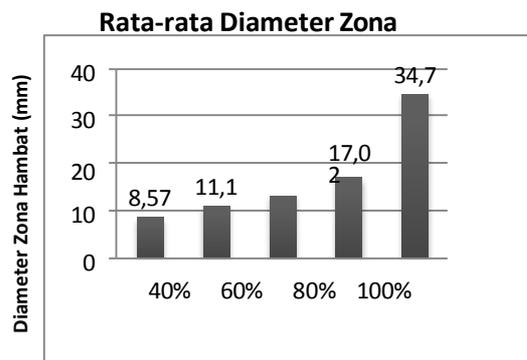
beberapa penelitian serupa dapat terjadi bila dilakukan dengan metode ekstraksi yang berbeda, tanaman obat yang berbeda.

Uji Aktivitas Antifungi Ekstrak Etil Asetat Batang Brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers)

Berdasarkan hasil penelitian menunjukkan bahwa ekstrak etil asetat memiliki aktivitas antifungi yang dapat menghambat pertumbuhan *C. albicans* pada konsentrasi 40, 60, 80, dan 100%. Terhambatnya pertumbuhan *C. albicans* ditandai dengan terbentuknya zona bening dengan rata-rata diameter zona bening secara berturut yaitu 8,57 mm, 11,1 mm, 13,21 mm, dan 17,02 mm. Jika didasarkan pada klasifikasi respon hambatan menurut Arora & Bhardwaj (1997), ekstrak etil asetat konsentrasi 40% tergolong lemah, konsentrasi 60 dan 80% tergolong cukup, dan konsentrasi 100% tergolong sedang. Rata - rata diameter zona bening pertumbuhan *C. albicans* yang terbentuk memiliki kecenderungan meningkat seiring dengan peningkatan konsentrasi ekstrak etil asetat batang brotowali yang digunakan, yang berarti antara konsentrasi ekstrak dengan zona bening berbanding lurus. Hasil analisis data menunjukkan bahwa munculnya zona bening dipengaruhi oleh penggunaan konsentrasi ekstrak etil

asetat batang brotowali ($P < 0,05$). Hal ini menandakan bahwa pelarut etil asetat mampu melarutkan senyawa metabolit sekunder yang terdapat dalam batang brotowali. Wachidah (2013) dalam penelitiannya telah membuktikan bahwa pelarut polar seperti etil asetat dan metanol efektif untuk menarik senyawa aktif berupa flavonoid, saponin, tanin, dan glikosida dari buah parijoto.

Gambar 2. Hasil uji aktivitas ekstrak etil asetat batang brotowali (*Tinospora crispa* L. Miers) terhadap *Candida albicans*



Ekstrak etil asetat konsentrasi 20% tidak memiliki aktivitas antifungi yang ditandai dengan tidak terbentuknya zona bening. Hal ini disebabkan senyawa yang terkandung dalam konsentrasi tersebut belum mampu menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Beberapa hal yang dapat menyebabkan tidak munculnya zona bening di antaranya: mikroba menghasilkan enzim yang dapat merusak

senyawa yang berfungsi sebagai antimikroba, mikroba merubah permeabilitas terhadap zat yang berfungsi sebagai antimikroba, mikroba dapat mengembangkan suatu perubahan struktur sasaran bagi zat yang berfungsi sebagai antimikroba, mikroba bisa mengembangkan perubahan metabolisme yang dapat mengganggu zat yang dapat berfungsi sebagai antimikroba, dan mikroba juga bisa mengembangkan suatu enzim yang dapat merubah fungsi dari suatu zat yang berkhasiat sebagai antimikroba (Katzung, 1995).

Respon terhambatnya pertumbuhan *C. albicans* sebagai efek pemberian ekstrak etil asetat batang brotowali dapat terjadi karena komponen senyawa yang terkandung dalam ekstrak seperti flavonoid, fenol, tanin. Hal ini sesuai dengan pendapat Rohman *et. al.* (2006), pelarut etil asetat sangat cocok untuk mengekstraksi senyawa fenolik. Batang brotowali diketahui mengandung flavonoid katekin, luteolin, morin, dan rutin (Amom *et. al.*, 2009).

Dalam penelitian ini pengujian aktivitas antifungi juga dilakukan pada ketokonazol 50.000 ppm sebagai kontrol positif yang menghasilkan zona bening paling tinggi yaitu sebesar 34,7 mm. Zona bening yang dihasilkan oleh ketokonazol lebih besar dari zona bening yang

dihasilkan ekstrak etil asetat batang brotowali, hal ini menandakan bahwa ketokonazol lebih efektif menghambat pertumbuhan *C. albicans* dibandingkan ekstrak etil asetat batang brotowali. Hal ini terjadi karena ketokonazol adalah salah satu obat yang digunakan untuk menangani infeksi yang disebabkan oleh *C. albicans*. Ketokonazol merupakan obat antijamur dari golongan azol-imidazol, yang efektif terhadap beberapa jenis jamur salah satunya *Candida*. Ketokonazol bekerja sebagai inhibitor enzim sitokrom P-450 C-14- α -dimethylase yang berperan dalam mengubah lanosterol menjadi ergosterol sehingga dinding sel jamur menjadi permeabel dan hancur (Rex & Arikan, 2003 dalam Murray et al., 2016).

Uji kontrol negatif dilakukan menggunakan DMSO yang tidak menunjukkan adanya hambatan pertumbuhan *C. albicans*. Hal ini menunjukkan bahwa DMSO tidak berpengaruh terhadap penghambatan pertumbuhan fungi. DMSO adalah pelarut organik yang paling kuat sehingga dapat melarutkan berbagai bahan organik dan polimer secara aktif (Gaylord Chemical Company, 2007). Kontrol negatif berfungsi memperlihatkan bahwa *suspending agent* yang digunakan tidak memiliki efek untuk menghambat

pertumbuhan mikroba, sehingga aktivitas antimikroba yang dihasilkan murni berasal dari ekstrak yang diuji (Wardhani & Sulistyani, 2012). Pelarut DMSO bersifat netral, tidak bersifat asam atau basa karena pelarut tersebut tergolong sebagai pelarut aprotik (Jacob & de la Torre, 2015).

Hasil Analisis Data

Uji normalitas data dilakukan untuk mengetahui bahwa sampel penelitian merupakan jenis sampel dengan distribusi normal. Data sampel diuji dengan menggunakan pengujian *Kolmogrov-Smirnov Goodness of Fit Test*. Hasil uji terhadap variabel zona bening diperoleh nilai signifikansi 0,984 ($P > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data pada variabel zona bening memiliki distribusi normal.

Uji homogenitas ragam data dilakukakan untuk mendeteksi ada atau tidaknya heterogenitas pada penelitian ini. Berdasarkan hasil uji data sampel dengan menggunakan *Levene Test Homogeneity of Variance*, diperoleh nilai signifikansi 0,652 ($P > 0,05$) yang menunjukkan bahwa data pada variabel zona bening relatif homogen.

Hasil uji *Post-hoc* menunjukkan perbedaan yang signifikan apabila nilai

signifikansi kurang dari 0,05 ($P < 0,05$). Seluruh perbandingan jumlah koloni antara tiap perlakuan konsentrasi ekstrak memiliki perbedaan yang signifikansi.

KESIMPULAN

Ekstrak etil asetat batang brotowali pada konsentrasi 40, 60, 80, dan 100% menunjukkan adanya aktivitas antifungi terhadap *C. albicans*. Semakin tinggi konsentrasi ekstrak maka semakin besar hambatan yang dihasilkan, namun ketokonazol sebagai antifungi masih lebih efektif dalam menghambat pertumbuhan *C. albicans*. Ekstrak etil asetat konsentrasi 20% dan ekstrak etanol batang brotowali pada konsentrasi 10 – 50% menunjukkan tidak adanya aktivitas antifungi terhadap pertumbuhan *C. albicans*.

DAFTAR PUSTAKA

- Amom, Z., Bahari, H., Isemaail, S., N.A., Shah, Z.M., Arsyad, M.S. 2009. Nutritional composition, antioxidant ability and flavonoid content of *Tinospora crispa* stem. *Adv. Nat. App. Sci.* 3(1): 88-94.
- Arora, D.S. dan Bhardwaj. 1997. Antibacterial Activity of Some Medicinal Plants. *Geo. Bios.* (24): 127-131.
- Bhavan, P.S., Rajkumar R., Radhakrishnan S., Seenivasan, C., Kannan, S. 2010. Culture and identification of *Candida albicans* from vaginal ulcers and separation of enolase on SDS-PAGE. *Int. J. Biol*; 2(1): 84–93.
- Brooks, G.F., Butel, J.S., and Morse, S.A. 2008. *Mikrobiologi Kedokteran*. Ed. 23. EGC, Jakarta.
- Edward, J.E. 1990. Invasive *Candida* infections. Evolution of a fungal pathogen. *N. Eng. J. Med.* 324: 1060- 1062.
- Gaylord Chemical Company. 2007. *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) Solubility Data*. GCC Bulletin 102 B, Los Angeles.
- Harley, J.P., and Prescott, L.M. 2002. *Laboratory Exercise in Microbiology 5th edition*. McGraw-Hill. New York.
- Jacob, S.W., de la Torre, J.C. 2015. *Dimethyl Sulfoxide (DMSO) in Trauma and Disease*. CRC Press, Boca Raton.
- Katzung, B.G. 2004. *Basic and clinical pharmacology*. Edisi ke 9. Mc Graw-Hill 795-7, New York.
- Kwolek, M.M., Zadrag, T.R. 2014. Comparison of methods used for assessing the viability and vitality of yeast cell. *FEMS Yeast Res.*, 14(7):1068-79.
- Nasronudin. 2006. *Buku Ajar Ilmu Penyakit*

- Dalam: In feksi Jamur*. Edisi 4 Jilid 3. Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Pratiwi, S.T.,. 2008. *Mikrobiologi Farmasi*. 174, 188, 190, 191-192. Penerbit Erlangga. Jakarta.
- Rex, J.H., and Arian, S. 2003. Antifungal agents. *Dalam* : Murray, P.R., Baron, E.J., Jorgensen, J.H., Pfaller, M.A., Tenover, R.H., (Eds). *Manual Of Clinical Microbiology*. Edisi ke 8. Washington DC : ASM Press, : 1860 - 1.
- Rohman, A., Riyanto, S., Utari, D. 2006. Aktivitas Antioksidan, Kandungan Fenolik Total dan Kandungan Flavonoid Total Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu serta Fraksi-Fraksinya. *Majalah Farmasi Indonesia*. 17: 136-142.
- Shahriar, M., Aminul, H.M., & Ashraf, I.S.M. 2011. Antimicrobial, cytotoxicity and antioxidant activity of *Tinospora crispa*. *J. Pharm. Biomed. Sci.*, 13, 12.
- Wachidah, Leliana. N. 2013. Uji Aktivitas Antioksidan serta Penentuan Kandungan Fenolat dan Flavonoid Total dari Buah Parijoto (*Medinilla speciosa Blume*). Skripsi. UIN Syarif Hidayatullah, Jakarta.
- Wardhani, L.K., Sulistyani, N. 2012. *Uji aktivitas antibakteri ekstrak etil asetat daun binahong (Anredera scandens (L.) Moq.) terhadap Shigella flexneri beserta profil kromatografi lapis tipis*. Universitas Ahmad Dahlan. Yogyakarta.